

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 432 381**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/68** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.04.2009 E 09734270 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.08.2013 EP 2271934**

54 Título: **Diagnóstico y/o pronóstico de la disfunción renal**

30 Prioridad:

**21.04.2008 GB 0807214**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**03.12.2013**

73 Titular/es:

**BELFAST HEALTH AND SOCIAL CARE TRUST  
(50.0%)  
A Floor, Tower Building, Belfast City Hospital, 51  
Lisburn Road  
Belfast BT9 7AB, GB y  
THE QUEEN'S UNIVERSITY OF BELFAST (50.0%)**

72 Inventor/es:

**MCBRIDE, WILLIAM THOMAS y  
ARMSTRONG, MARILYN**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 432 381 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Diagnóstico y/o pronóstico de la disfunción renal

La presente invención se refiere a un método para diagnosticar y/o pronosticar una disfunción renal.

5 Aparte del negativo impacto directo de un trauma físico sobre el cuerpo (por ejemplo, de las lesiones causadas por la cirugía o por accidentes de tráfico, o de procedimientos quirúrgicos tales como un baipás sanguíneo a través de una máquina de corazón-pulmón), los sujetos que padecen un trauma físico desarrollan a menudo una disfunción renal aguda. Otras causas de una disfunción renal aguda similar incluyen estados hipotensivos prolongados (asociados con isquemia de la mucosa intestinal y con translocación de endotoxinas del intestino a la circulación), sepsis y síndromes de choque séptico.

10 En una población de pacientes que tienen una función renal normal, el diagnóstico de una disfunción renal postraumática, inducida por un estado hipotensivo, inducida por una sepsis y/o inducida por un síndrome de choque séptico se puede llevar a cabo basándose en una caída del Índice de Filtración Glomerular (GFR; del inglés, Glomerular Filtration Rate) en comparación con el GFR normal o de línea de base, según se mide, por ejemplo, mediante la prueba de MDRD (explicada más adelante con mayor detalle). La limitación de un diagnóstico o  
15 pronóstico basado en dichas mediciones es que normalmente lleva varios días el estimar por MDRD que han caído los valores de GFR. Cuando se detecta la caída del GFR, a menudo es demasiado tarde para establecer medidas terapéuticas para evitar el ulterior deterioro de la función renal. El reto a que se enfrenta, por ejemplo, el médico "perioperativo" (implicado en la preparación, ejecución y/o recuperación de una cirugía) o el médico de cuidados intensivos es identificar un marcador biológico de disfunción renal 48 horas antes de que se materialice dicha  
20 disfunción (es decir, mientras existe aún la posibilidad de que se tomen medidas preventivas en la unidad de cuidados intensivos; tal como llevar rápidamente las presiones sanguíneas de dichos pacientes a valores supranormales, una intervención que por derecho propio no está exenta de riesgo en el contexto posoperativo a no ser que esté justificada por la presencia de un riesgo aún mayor de una insuficiencia renal inminente, tal como se podría identificar mediante la prueba de acuerdo con la presente invención).

25 Está bien documentado que un trauma en el cuerpo induce una respuesta proinflamatoria plasmática aguda (a menudo transitoria). Se ha mostrado que la magnitud de esta respuesta proinflamatoria plasmática aguda se correlaciona con una disfunción renal postraumática (Gormley et al., *Anesthesiology*, 2000, 93). Otras causas de una similar respuesta proinflamatoria nefrotóxica aguda incluyen estados hipotensivos prolongados, asociados con isquemia de la mucosa intestinal y con translocación de endotoxinas del intestino a la circulación), y sepsis y  
30 síndromes de choque séptico, todos los cuales van normalmente precedidos por, o están normalmente asociados con, una respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) caracterizada por aumentos agudos de mediadores proinflamatorios en la sangre. Un mecanismo de cómo dichas respuestas proinflamatorias agudas, cuando se filtran de la sangre, dañan los túbulos renales fue sugerido por Chatterjee, quien demostró que el TNF- $\alpha$  aplicado in vitro a túbulos proximales en cultivo celular conduce a un daño celular (Markewitz, *J. Clin. Invest.* 1993; 91; Chatterjee et al., *Exp. Nephrol.* 1999; 7: 438-8). Después de una estimulación con la combinación de las citocinas inflamatorias IL-1-beta, TNF-alfa e IFN-gamma, las células tubulares proximales presentan in vitro un aumento, dependiente del tiempo, de inducción de NO sintasa inducible y la correspondiente producción de NO hasta una concentración  
35 citotóxica, un efecto que era inhibido por L-NMMA (Chatterjee et al., *Exp. Nephrol.* 1999; 7: 438-8). La estimulación de células epiteliales de riñón de rata con TNF-alfa e IFN-gamma aumentó drásticamente el nivel de mRNA de óxido nítrico sintasa inducible (Markewitz, *J. Clin. Invest.* 1993; 91).

Numerosas publicaciones muestran que los niveles de citocinas antiinflamatorias urinarias muestran drásticos aumentos después de un trauma y, en realidad, reflejan el susodicho aumento en el nivel de respuestas proinflamatorias. Véase, por ejemplo, Gormley et al., *Cytokine*, 21 de enero de 2002, 17 (2). Además de esto, se ha  
45 demostrado que la magnitud de los aumentos postraumáticos de citocinas antiinflamatorias se correlaciona con la magnitud de la lesión y la disfunción renales. Véanse, por ejemplo: Litalien et al., *Pediatr. Nephrol.*, noviembre de 1999, 13 (9.); Gretchen et al., *Anesthesiology*, noviembre de 2000; Gormley et al., *Anesthesiology*, 2000, 93; y la Publicación de Patente Europea nº 1962092 A (Renovar, Inc.). De la presentación de estos resultados en las publicaciones anteriormente mencionadas resulta evidente que el drástico aumento de citocinas antiinflamatorias se propone como un marcador directamente proporcional para la disfunción renal.

50 Los inventores se vieron por lo tanto sorprendidos al hallar que, cuando analizaron las respuestas de citocinas antiinflamatorias urinarias de un grupo de sujetos postraumáticos mayor que el previamente analizado, una población de esos sujetos presentaba sólo una respuesta de citocinas antiinflamatorias moderada o insignificante después de un trauma físico, a diferencia de la esperada elevación drástica de respuestas de citocinas antiinflamatorias previamente comunicada y como la experimentada por la mayoría de los sujetos. Tras otro análisis  
55 de este subgrupo, resultó sorprendente hallar que sus miembros presentaban un riesgo elevado de desarrollar disfunción renal cuando se comparaban con aquellos que mostraban la esperada elevación drástica de respuestas de citocinas antiinflamatorias urinarias después de un trauma físico. Tales hallazgos son contrarios a la previamente

aceptada conclusión de que los aumentos postraumáticos de citocinas antiinflamatorias urinarias se correlacionan con la magnitud de la lesión y la disfunción renales.

Sin pretender una restricción por la teoría, pero en interés de la claridad, los inventores creen que la razón de que los estudios previos sugirieran que las citocinas antiinflamatorias urinarias reflejaban directamente la lesión renal era que los marcadores de lesión renal que se utilizaron en esos estudios previos eran generalmente marcadores subclínicos. Los presentes inventores proponen ahora que estos marcadores subclínicos no reflejaban necesariamente una disfunción renal clínicamente significativa porque los efectos nefrotóxicos del estímulo nocivo que causaba la lesión subclínica eran adecuadamente contrarrestados, en los pacientes en que esto bien ocurría, por una adecuada respuesta inmune antiinflamatoria urinaria y compensatoria simultáneamente generada. Los pacientes que no desarrollan una adecuada respuesta inmune antiinflamatoria urinaria y compensatoria son los que, como proponen los presentes inventores, van a desarrollar una lesión renal clínicamente significativa, una hipótesis que no puede ser desarrollada a partir de los estudios previamente disponibles. Además, a causa de restricciones económicas, los estudios previos se llevaron a la práctica sobre un número relativamente pequeño de personas (menos de 30 personas), lo que significó que el subgrupo de individuos con una escasa respuesta antiinflamatoria compensatoria no proporcionó un impacto estadísticamente significativo sobre los resultados previamente obtenidos (el presente estudio fue llevado a la práctica sobre casi 400 personas).

Después de una amplia experimentación, los inventores han proporcionado una evidencia que sustenta el concepto de que controlando un nivel reducido de respuesta de citocinas antiinflamatorias en un sujeto postraumático o hipotensivo, o en un sujeto que padece sepsis o síndrome de choque séptico, se puede llegar a un método de diagnóstico y/o pronóstico para la disfunción renal.

En consecuencia, en un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un método para el pronóstico de una disfunción renal inducida por un trauma físico, hipotensión, sepsis y/o síndrome de choque séptico, en donde el método comprende las operaciones de:

- a) determinar el nivel de una citocina antiinflamatoria presente en una muestra de orina de un sujeto antes de un trauma físico, antes de un proceso hipotensivo, antes de una sepsis y/o antes de un síndrome de choque séptico;
- b) determinar el nivel de la citocina antiinflamatoria presente en una muestra de orina del sujeto después de un trauma físico, después o durante un proceso hipotensivo, después o durante una sepsis y/o después o durante un síndrome de choque séptico;
- c) calcular la diferencia entre el nivel de la citocina antiinflamatoria determinado en la operación a) y el nivel de la citocina antiinflamatoria determinado en la operación b); y
- d) proporcionar un diagnóstico y/o pronóstico basándose en una comparación entre la diferencia calculada en la operación c) y la diferencia calculada en la operación c) cuando las operaciones a) y b) se llevan a la práctica sobre un grupo testigo.

El grupo testigo es un grupo de individuos que no presentan disfunción renal al quinto día después de un trauma físico, después o durante un proceso hipotensivo, después o durante una sepsis y/o después o durante un síndrome de choque séptico (es decir, el grupo testigo representa el individuo "normal" que no desarrolla una disfunción renal después de un trauma, un proceso hipotensivo, una sepsis y/o un síndrome de choque séptico). Todos los pacientes testigo habrán soportado cierto grado de lesión renal subclínica pero no habrán presentado una lesión renal clínicamente significativa. La determinación de si un individuo presenta disfunción renal o no es una cuestión clínica que está totalmente dentro de la capacidad de la persona experta. Sin embargo, en interés de la claridad, la disfunción renal se caracteriza por una reducción de la capacidad para excretar productos metabólicos, que se acumulan sistémicamente y son detectables clinicopatológicamente mediante pruebas de la función renal (en estados avanzados, la disfunción renal puede ser insuficiencia aguda del riñón, uremia o daño renal crónico). Más adelante se describe, por ejemplo, el método de MDRD para determinar la función renal. El grupo testigo puede experimentar un proceso igual o similar (es decir, un trauma, un proceso hipotensivo, una sepsis y/o un síndrome de choque séptico iguales o similares) al del sujeto sometido a diagnóstico.

La diferencia calculada en la operación c) cuando las operaciones a) y b) se llevan a la práctica sobre un grupo testigo puede ser un valor predeterminado. El valor predeterminado se puede establecer por medio de las operaciones siguientes:

- a') determinar el nivel de la citocina antiinflamatoria presente en una muestra de orina de un grupo testigo antes de un trauma físico, antes de un proceso hipotensivo, antes de una sepsis y/o antes de un síndrome de choque séptico;
- b') determinar el nivel de la citocina antiinflamatoria presente en una muestra de orina del grupo testigo después

de un trauma físico, después o durante un proceso hipotensivo, después o durante una sepsis y/o después o durante un síndrome de choque séptico; y

c') calcular la diferencia entre el nivel de citocina antiinflamatoria determinado en la operación a') y el nivel de citocina antiinflamatoria determinado en la operación b').

- 5 Con mayor detalle, las operaciones a'), b') y c') pueden comprender: a') determinar el nivel medio de la citocina antiinflamatoria presente en una muestra de orina de individuos de un grupo testigo antes de un trauma físico, antes de un proceso hipotensivo, antes de una sepsis y/o antes de un síndrome de choque séptico; b') determinar el nivel medio de la citocina antiinflamatoria presente en una muestra de orina de individuos del grupo testigo después de un trauma físico, después o durante un proceso hipotensivo, después o durante una sepsis y/o después o durante un síndrome de choque séptico; y c') calcular la diferencia entre el nivel medio de citocina antiinflamatoria determinado en la operación a') y el nivel medio de citocina antiinflamatoria determinado en la operación b'). El grupo testigo puede comprender 30 individuos o más. El grupo testigo puede comprender 300 individuos o más.

15 Basándose en los hallazgos de los inventores, los sujetos que muestran una diferencia calculada en la operación c) que es más pequeña que la diferencia calculada en la operación c) cuando las operaciones a) y b) se llevan a la práctica sobre un grupo testigo presentan un riesgo de desarrollar disfunción renal mayor que el normal [es decir, dichos sujetos presentan un riesgo aumentado de desarrollar disfunción renal en comparación con los sujetos del grupo testigo (es decir, los individuos normales)]. Dichos sujetos pueden presentar un riesgo de tener disfunción renal mayor que el normal 5 días después de un trauma físico, después o durante un proceso hipotensivo, después o durante una sepsis y/o después o durante un síndrome de choque séptico. Los sujetos que muestran una diferencia calculada en la operación c) que es igual o mayor que la diferencia calculada en la operación c) cuando las operaciones a) y b) se llevan a la práctica sobre un grupo testigo presentan un riesgo de desarrollar disfunción renal menor que el normal. Dichos sujetos pueden presentar un riesgo de tener disfunción renal menor que el normal 5 días después de un trauma físico, después o durante un proceso hipotensivo, después o durante una sepsis y/o después o durante un síndrome de choque séptico.

25 Los sujetos que muestran una diferencia calculada en la operación c) que es progresivamente menor que el 100% de la diferencia en la operación c) cuando las operaciones a) y b) se llevan a la práctica sobre un grupo testigo presentan un riesgo de desarrollar disfunción renal progresivamente mayor que el normal. De este modo, cuando la diferencia calculada en la operación c) es el 95% o menos, el 90% o menos, el 80% o menos, el 70% o menos, el 60% o menos, el 50% o menos, el 40% o menos, el 30% o menos, el 20% o menos, o el 10% o menos de la diferencia en la operación c) cuando las operaciones a) y b) se llevan a la práctica sobre un grupo testigo presentan un riesgo de desarrollar disfunción renal mayor que el normal. Dichos sujetos pueden presentar un riesgo de tener disfunción renal mayor que el normal 5 días después de un trauma físico, después o durante un proceso hipotensivo, después o durante una sepsis y/o después o durante un síndrome de choque séptico.

35 Sin pretender ninguna restricción más, pero en interés de la claridad, en una realización de la presente invención, cuando la diferencia calculada en la operación c) cuando se llevan las operaciones a) y b) a la práctica sobre un grupo testigo es 36.000, 35.500, 35.000, 7500, 7600, 7800, 8000 o más pg de citocina antiinflamatoria en un ml de orina mayor que la diferencia calculada en c) [cuando las operaciones a) y b) se llevan a cabo sobre el sujeto], ese sujeto presenta entonces un riesgo de desarrollar disfunción renal mayor que el normal. Dichos sujetos pueden presentar un riesgo de tener disfunción renal mayor que el normal 5 días después de un trauma físico, después o durante un proceso hipotensivo, después o durante una sepsis y/o después o durante un síndrome de choque séptico.

40 La disfunción renal inducida por un trauma físico, hipotensión, sepsis y/o síndrome de choque séptico se puede caracterizar además por respuestas proinflamatorias que se inducen después de estos procesos. Dichas respuestas inflamatorias siguen comúnmente el patrón de una respuesta inflamatoria sistémica clásica (SIRS). De este modo, las disfunciones renales que se van a diagnosticar/pronosticar de acuerdo con la presente invención pueden ser aquéllas que son inducidas por una respuesta proinflamatoria urinaria aguda (posiblemente transitoria) [por ejemplo, unos niveles urinarios elevados de IL-18 y/o de lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilo (NGAL; del inglés, neutrophil gelatinase-associated lipocalin)].

50 La disfunción renal que se va a diagnosticar/pronosticar puede ser disfunción renal precoz, disfunción renal tardía o disfunción renal general.

Tales formas agudas de disfunción renal se pueden distinguir de la disfunción renal crónica de mediación autoinmune, un estado que es clínicamente evidente a lo largo de un periodo prolongado de tiempo en paralelo con el estado autoinmune coexistente (es decir, no hay necesidad alguna de un marcador biológico para predecir el desarrollo de una disfunción renal que se producirá unos pocos días más tarde, porque la disfunción renal ya está bien establecida).

Un trauma físico es el impacto sobre el cuerpo de fuerzas externas aplicadas al cuerpo, tal como, por ejemplo, las

lesiones causadas por una cirugía o por golpes o cortes en el cuerpo (tales como los que se podrían experimentar durante un accidente de tráfico); o el impacto sobre la sangre conforme ésta interacciona con la superficie extraña de una máquina de baipás cardiopulmonar. La disfunción renal inducida por un trauma físico puede ser una disfunción renal posoperativa. La disfunción renal posoperativa puede ser después de una cirugía cardíaca, cardiovascular o cardiopulmonar.

5 El que un individuo tenga hipotensión o no es una cuestión clínica y, por lo tanto, está completamente dentro de la experiencia de una persona normal en la técnica. Sin embargo, para la evitación de dudas, la hipotensión se puede definir en adultos como una presión sistólica de la sangre < 80 mm Hg o una presión arterial media (MAP; del inglés, mean arterial pressure) < 50 mm Hg. La hipotensión se puede prolongar, por ejemplo, durante más de 2 horas.

10 El que un individuo tenga sepsis o no es una cuestión clínica y, por lo tanto, está completamente dentro de la experiencia de una persona normal en la técnica. Sin embargo, para la evitación de dudas, se puede considerar que está presente una sepsis si se sospecha intensamente o se demuestra que hay una infección y se satisfacen dos o más de los siguientes criterios para un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS; del inglés, systemic inflammatory response syndrome):

- 15
1. Frecuencia cardíaca > 90 latidos por minuto (taquicardia);
  2. Temperatura corporal < 36 °C o > 38 °C (hipotermia o fiebre);
  3. Frecuencia respiratoria > 20 respiraciones por minuto o, en gasometría sanguínea, una P<sub>a</sub> de CO<sub>2</sub> inferior a 32 mm Hg (4,3 kPa) (taquipnea o hipocapnia a causa de una hiperventilación); y
  4. Recuento de glóbulos blancos < 4000 células/mm<sup>3</sup> o > 12.000 células/mm<sup>3</sup> (< 4 x 10<sup>9</sup> o > 12 x 10<sup>9</sup> células/l), o más de un 10% de formas en banda.
- 20

El que un individuo tenga un choque séptico o no es una cuestión clínica y, por lo tanto, está completamente dentro de la capacidad de una persona normal experta en la técnica. Sin embargo, para la evitación de dudas, el choque séptico puede ser definido por la presencia de los dos criterios siguientes:

- 25
1. Evidencia de infección, a través de un cultivo sanguíneo positivo; y
  2. Hipotensión refractaria – hipotensión a pesar de una reanimación con fluidos y un gasto cardiaco adecuados. En adultos se define como una presión sistólica de la sangre < 90 mm Hg, o una MAP < 60 mm Hg, antes de la institución del requerido soporte inotrópico reanimador, o una reducción de 40 mm Hg en la presión sistólica de la sangre desde la línea de base. En niños, es una presión sanguínea < 2 unidades de desviación estándar por debajo de la presión sanguínea normal.

30 El que un individuo tenga un SIRS o no es una cuestión clínica y, por lo tanto, está completamente dentro de la capacidad de una persona normal experta en la técnica. Sin embargo, para la evitación de dudas, se puede diagnosticar un SIRS cuando están presentes dos o más de los puntos siguientes:

- 35
1. Frecuencia cardíaca > 90 latidos por minuto;
  2. Temperatura corporal < 36 °C o > 38 °C;
  3. Taquipnea (frecuencia respiratoria elevada) > 20 respiraciones por minuto o, en gasometría sanguínea, una P<sub>a</sub> de CO<sub>2</sub> < 4,3 kPa (32 mm Hg); y
  4. Recuento de glóbulos blancos < 4000 células/mm<sup>3</sup> o > 12.000 células/mm<sup>3</sup> (< 4 x 10<sup>9</sup> o > 12 x 10<sup>9</sup> células/l), o la presencia de más de un 10% de neutrófilos inmaduros.

40 Las operaciones a) y/o a') pueden ir precedidas de una operación de obtención de una muestra de orina del grupo objetivo o testigo citados en las operaciones a) y/o a'), respectivamente. En los casos en que el trauma físico, el proceso hipotensivo, la sepsis y/o el síndrome de choque séptico están planeados o se pueden predecir, por ejemplo, en un trauma quirúrgico, aquellos pueden ser relativamente claros. Cuando el trauma físico, el proceso hipotensivo, la sepsis y/o el síndrome de choque séptico son inesperados, por ejemplo, cuando son inducidos por un accidente de tráfico, la operación de determinar el nivel de una citocina antiinflamatoria presente en una muestra de orina de un sujeto antes de estos sucesos [es decir, la operación a)] se lleva a cabo usando un nivel testigo para la citocina antiinflamatoria. Un nivel testigo es el nivel establecido para que sea el nivel humano medio (es decir, normal) de la citocina antiinflamatoria en la orina antes de un trauma físico, un proceso hipotensivo, una sepsis y/o un síndrome de choque séptico. Sin pretender más restricciones, pero en interés de la claridad, los valores testigo normales pueden ser los siguientes: 6000-10.000 pg/ml de IL-1ra y 2500-2700 pg/ml de TNFsr2.

50 Las operaciones b) y/o b') pueden ir precedidas de una operación de obtención de una muestra de orina del grupo

objetivo o testigo citados en las operaciones b) y/o b'), respectivamente. La muestra de orina analizada en las operaciones b) y/o b') puede ser obtenida del grupo objetivo/testigo después de un trauma físico, un proceso hipotensivo, una sepsis y/o un síndrome de choque séptico en menos de 48, 36, 12, 6, 4 o 2 horas. La muestra de orina analizada en las operaciones b) y/o b') puede ser obtenida del grupo objetivo/testigo después del trauma físico, el proceso hipotensivo, la sepsis y/o el síndrome de choque séptico en un periodo de 2 a 48 horas, 4 a 36 horas, 6 a 24 horas, o 8 a 16 horas.

La citocina antiinflamatoria puede ser cualquier citocina que sea capaz de suprimir respuestas inflamatorias en el organismo y pueda ser detectada en la orina. La citocina antiinflamatoria puede ser una localmente liberada en tejido renal. La citocina antiinflamatoria puede ser TNFsr1, TNFsr2 o IL-1ra.

10 En una realización de la presente invención, cuando la citocina es TNFsr2 y la diferencia calculada en la operación c) cuando se llevan las operaciones a) y b) a la práctica sobre un grupo testigo es 7500, 7600, 7800, 8000 o más pg de TNFsr2 en un ml de orina mayor que la diferencia calculada en c) [cuando se llevan a cabo las operaciones a) y b) sobre el sujeto], ese sujeto presenta entonces un riesgo de desarrollar disfunción renal mayor que el normal. Tales sujetos pueden presentar un riesgo de tener disfunción renal mayor que el normal 5 días después de un trauma físico, después o durante un proceso hipotensivo, después o durante una sepsis y/o después o durante un síndrome de choque séptico.

20 En una realización de la presente invención, cuando la citocina es IL-1ra y la diferencia calculada en la operación c) cuando se llevan las operaciones a) y b) a la práctica sobre un grupo testigo es 36.000, 35.500, 35.000 o más pg de IL-1ra en un ml de orina mayor que la diferencia calculada en c) [cuando se llevan a cabo las operaciones a) y b) sobre el sujeto], ese sujeto presenta entonces un riesgo de desarrollar disfunción renal mayor que el normal. Tales sujetos pueden presentar un riesgo de tener disfunción renal mayor que el normal 5 días después de un trauma físico, después o durante un proceso hipotensivo, después o durante una sepsis y/o después o durante un síndrome de choque séptico.

25 Se ha hallado que, basando el diagnóstico y/o pronóstico en el análisis de los niveles de más de un tipo de citocina antiinflamatoria, se puede aumentar la sensibilidad de los métodos de diagnóstico o pronóstico de acuerdo con la presente invención. Por ejemplo, los métodos de acuerdo con la presente invención pueden comprender además las operaciones de:

30 a") determinar el nivel de una o más citocinas antiinflamatorias adicionales presentes en una muestra de orina de un sujeto antes de un trauma físico, antes de un proceso hipotensivo, antes de una sepsis y/o antes de un síndrome de choque séptico;

b") determinar el nivel de una o más citocinas antiinflamatorias adicionales presentes en una muestra de orina del sujeto después de un trauma físico, después o durante un proceso hipotensivo, después o durante una sepsis y/o después o durante un síndrome de choque séptico;

35 c") calcular la diferencia entre el nivel de la una o más citocinas antiinflamatorias adicionales determinado en la operación a") y el nivel de la una o más citocinas antiinflamatorias adicionales determinado en la operación b"); y

d") proporcionar un diagnóstico y/o pronóstico basándose en una comparación entre la diferencia calculada en la operación c") y la diferencia calculada en la operación c") cuando se llevan las operaciones a") y b") a la práctica sobre un grupo testigo.

40 El diagnóstico y el pronóstico son más sensibles cuando se consideran conjuntamente las comparaciones realizadas en la operación d) y la operación d"). El riesgo de que el sujeto desarrolle una disfunción renal es mayor cuando tanto (i) la diferencia calculada en la operación c) es más pequeña que la diferencia calculada en la operación c) cuando se llevan las operaciones a) y b) a la práctica sobre un grupo testigo, como (ii) la diferencia calculada en la operación c") es más pequeña que la diferencia calculada en la operación c") cuando se llevan las operaciones a") y b") a la práctica sobre un grupo testigo.

45 En dicho método se puede emplear cualquier combinación de las citocinas antiinflamatorias anteriormente mencionadas. Por ejemplo, la citocina antiinflamatoria determinada en las operaciones a) y b) puede ser IL-1ra, y la una o más citocinas antiinflamatorias determinadas en las operaciones a") y b") puede ser TNFsr2.

50 Se han identificado marcadores proinflamatorios de una disfunción renal inminente: los mediadores proinflamatorios NGAL e IL-18 (Mishra et al., Lancet, 2005. 365: 1231-38). Las elevaciones de estas sustancias en la orina de niños se han asociado con un riesgo aumentado de que se desarrolle una disfunción renal varios días más tarde. Sin embargo, basándose en la hipótesis presentada por los presentes inventores, puede que sólo el establecimiento de que un individuo presenta una respuesta proinflamatoria elevada no sea suficiente para establecer el riesgo de que se desarrolle una disfunción renal.

Basando el diagnóstico y/o pronóstico en el análisis de los niveles de una (o más de un tipo de) citocina antiinflamatoria y uno o más mediadores proinflamatorios, se pueden aumentar la sensibilidad de los métodos de diagnóstico o pronóstico de acuerdo con la presente invención y la sensibilidad de los métodos ya conocidos que sólo se basan en mediadores proinflamatorios. Por ejemplo, los métodos de acuerdo con la presente invención pueden comprender además las operaciones de:

a''') determinar el nivel de uno o más mediadores proinflamatorios presentes en una muestra de orina de un sujeto antes de un trauma físico, antes de un proceso hipotensivo, antes de una sepsis y/o antes de un síndrome de choque séptico;

b''') determinar el nivel de uno o más mediadores proinflamatorios presentes en una muestra de orina del sujeto después de un trauma físico, después o durante un proceso hipotensivo, después o durante una sepsis y/o después o durante un síndrome de choque séptico;

c''') calcular la diferencia entre el nivel del uno o más mediadores proinflamatorios determinado en la operación a''') y el nivel de la una o más citocinas antiinflamatorias adicionales determinado en la operación b'''); y

d''') proporcionar un diagnóstico y/o pronóstico basándose en una comparación entre la diferencia calculada en la operación c''') y la diferencia calculada en la operación c''') cuando se llevan las operaciones a''') y b''') a la práctica sobre un grupo testigo.

El diagnóstico y el pronóstico son más sensibles cuando se consideran conjuntamente las comparaciones realizadas en la operación d) y la operación d''') (aún más sensibles cuando se consideran conjuntamente d, d''') y d'''). Por ejemplo, el riesgo de que el sujeto desarrolle una disfunción renal es mayor cuando (i) la diferencia calculada en la operación c) es más pequeña que la diferencia calculada en la operación c) cuando se llevan las operaciones a) y b) a la práctica sobre un grupo testigo, y (ii) la diferencia calculada en la operación c''') es igual o mayor que la diferencia calculada en la operación c''') cuando se llevan las operaciones a''') y b''') a la práctica sobre un grupo testigo.

Los mediadores proinflamatorios pueden ser cualquier mediador que sea capaz de inducir una respuesta inflamatoria en el organismo, esté implicado en el desarrollo de una disfunción renal y pueda ser detectado en la orina. Los mediadores proinflamatorios pueden ser IL-18 y/o NGAL.

En otro aspecto de la presente invención, se proporciona un kit para uso en los métodos de las reivindicaciones precedentes, en donde el kit comprende:

(a) uno o más reactivos para la detección de la cantidad de una o más citocinas antiinflamatorias; y

(b) instrucciones para utilizar el uno o más reactivos para detectar la una o más citocinas antiinflamatorias.

El kit puede comprender además uno o más reactivos para la detección de uno o más mediadores proinflamatorios, e instrucciones para utilizar el uno o más reactivos para detectar el uno o más mediadores proinflamatorios.

El kit puede comprender además instrucciones para usar la detección de la una o más citocinas antiinflamatorias con objeto de llegar a un diagnóstico o pronóstico para la disfunción renal. En una realización, las instrucciones son de acuerdo con las operaciones para diagnóstico o pronóstico de la disfunción renal proporcionadas en el primer aspecto de la presente invención.

El kit puede comprender además instrucciones para utilizar la detección del uno o más mediadores proinflamatorios con objeto de llegar a un diagnóstico o pronóstico para la disfunción renal. En una realización, las instrucciones son de acuerdo con las operaciones para diagnóstico o pronóstico de la disfunción renal proporcionadas en el primer aspecto de la presente invención.

Puesto que las instrucciones y los reactivos se van a poder utilizar con el fin de llevar a la práctica los métodos descritos anteriormente de acuerdo con el primer aspecto de la presente invención, todas las características del primer aspecto de la presente invención pueden estar incluidas en el segundo aspecto de la presente invención cuando el contexto lo permita. En consecuencia, por ejemplo, las citocinas antiinflamatorias (o combinaciones de las mismas) y los mediadores proinflamatorios mencionados en el primer aspecto de la presente invención pueden ser los citados anteriormente en el segundo aspecto de la presente invención.

La presente invención se puede utilizar en un método para tratar una disfunción renal inducida por un trauma físico, hipotensión, sepsis y/o síndrome de choque séptico, en donde el método incluye las operaciones de: (i) diagnosticar o pronosticar una disfunción renal de acuerdo con cualquiera de los métodos del primer aspecto de la presente invención; y (ii), cuando se ha identificado que el sujeto presenta un riesgo aumentado de desarrollar disfunción renal, aplicar medidas terapéuticas para tratar o evitar la disfunción renal inminente. La ventaja de dicho método sobre las intervenciones terapéuticas actuales es que se puede administrar la terapia en una fase en que se puede

prevenir una insuficiencia renal completa. Las medidas terapéuticas aplicadas en la operación (ii) pueden ser: mantener una presión sanguínea por encima del valor normal; asegurar una adecuada distribución tisular de oxígeno; administración de esteroides; terapia renal sustitutiva; diálisis; o cualquier combinación de las medidas anteriores. Otra ventaja de esta invención sería permitir que los jefes de cuidados intensivos identificaran pronto, en la estancia del paciente en cuidados intensivos, aquellos individuos que probablemente fueran a pasar en cuidados intensivos más tiempo del que en otro caso se podría prever, proporcionando una planificación precoz del despliegue de personal.

La presente invención será ahora descrita, a modo de ejemplo, con referencia a las figuras adjuntas, en las que:

La Figura 1 muestra un gráfico que muestra IL-1ra urinario en la línea de base (Muestra UA) y 24 horas después de una revascularización (Muestra UC) en pacientes cuyos valores de MDRD de los días 1, 2 y 5 fueron en todo momento inferiores a ( $n = 297$ ) o superiores a ( $n = 94$ ) una caída del 15% desde la línea de base preoperatoria. Dentro de un grupo, la comparación fue mediante el rango con signo de Wilcoxon ( $*** P < 0,001$ ) y, entre grupos, la comparación en los momentos de muestreo individual fue mediante la prueba de Mann Whitney ( $\# P < 0,05$ ).

La Figura 2 muestra un gráfico que muestra IL-1ra urinario en la línea de base (Muestra UA) y 24 horas después de una revascularización (Muestra UC) en pacientes cuyo valor de MDRD del día 1 (D1) fue inferior a ( $n = 351$ ) o superior a ( $n = 32$ ) una caída del 15% desde la línea de base preoperatoria. Dentro de un grupo, la comparación fue mediante el rango con signo de Wilcoxon ( $*** P < 0,001$ ) y, entre grupos, la comparación en los momentos de muestreo individual fue mediante la prueba de Mann Whitney ( $P > 0,05$ ).

La Figura 3 muestra un gráfico que muestra IL-1ra urinario en la línea de base (Muestra UA) y 24 horas después de una revascularización (Muestra UC) en pacientes cuyo valor de MDRD del día 2 (D2) fue inferior a ( $n = 314$ ) o superior a ( $n = 68$ ) una caída del 15% desde la línea de base preoperatoria. Dentro de un grupo, la comparación fue mediante el rango con signo de Wilcoxon ( $*** P < 0,001$ ) y, entre grupos, la comparación en los momentos de muestreo individual fue mediante la prueba de Mann Whitney ( $P > 0,05$ ).

La Figura 4 muestra un gráfico que muestra IL-1ra urinario en la línea de base (Muestra UA) y 24 horas después de una revascularización (Muestra UC) en pacientes cuyo valor de MDRD del día 5 (D5) fue inferior a ( $n = 347$ ) o superior a ( $n = 32$ ) una caída del 15% desde la línea de base preoperatoria. Dentro de un grupo, la comparación fue mediante el rango con signo de Wilcoxon ( $*** P < 0,001$ ;  $** P < 0,01$ ) y, entre grupos, la comparación en los momentos de muestreo individual fue mediante la prueba de Mann Whitney ( $### P < 0,001$ ).

La Figura 5 muestra un gráfico que muestra TNFsr-2 urinario en la línea de base (Muestra UA) y 24 horas después de una revascularización (Muestra UC) en pacientes cuyos valores de MDRD de los días 1, 2 y 5 fueron en todo momento inferiores a ( $n = 301$ ) o superiores a ( $n = 95$ ) una caída del 15% desde la línea de base preoperatoria. Dentro de un grupo, la comparación fue mediante el rango con signo de Wilcoxon ( $*** P < 0,001$ ) y, entre grupos, la comparación en los momentos de muestreo individual fue mediante la prueba de Mann Whitney ( $\# P < 0,01$ ).

La Figura 6 muestra un gráfico que muestra TNFsr-2 urinario en la línea de base (Muestra UA) y 24 horas después de una revascularización (Muestra UC) en pacientes cuyo valor de MDRD del día 1 (D1) fue inferior a ( $n = 360$ ) o superior a ( $n = 32$ ) una caída del 15% desde la línea de base preoperatoria. Dentro de un grupo, la comparación fue mediante el rango con signo de Wilcoxon ( $*** P < 0,001$ ) y, entre grupos, la comparación en los momentos de muestreo individual fue mediante la prueba de Mann Whitney ( $\# P < 0,05$ ).

La Figura 7 muestra un gráfico que muestra TNFsr-2 urinario en la línea de base (Muestra UA) y 24 horas después de una revascularización (Muestra UC) en pacientes cuyo valor de MDRD del día 2 (D2) fue inferior a ( $n = 323$ ) o superior a ( $n = 68$ ) una caída del 15% desde la línea de base preoperatoria. Dentro de un grupo, la comparación fue mediante el rango con signo de Wilcoxon ( $*** P < 0,001$ ) y, entre grupos, la comparación en los momentos de muestreo individual fue mediante la prueba de Mann Whitney ( $\# P < 0,05$ ).

La Figura 8 muestra un gráfico que muestra TNFsr-2 urinario en la línea de base (Muestra UA) y 24 horas después de una revascularización (Muestra UC) en pacientes cuyo valor de MDRD del día 5 (D5) fue inferior a ( $n = 351$ ) o superior a ( $n = 37$ ) una caída del 15% desde la línea de base preoperatoria. Dentro de un grupo, la comparación fue mediante el rango con signo de Wilcoxon ( $*** P < 0,001$ ) y, entre grupos, la comparación en los momentos de muestreo individual fue mediante la prueba de Mann Whitney ( $\# P < 0,01$ ).

### Métodos experimentales

Se estudiaron cuatrocientos pacientes consecutivos de bajo riesgo (405) que sufrieron una cirugía cardíaca optativa. Los pacientes fueron reunidos de la Unidad de Cirugía Cardíaca del Royal Victoria Hospital de Belfast ( $n = 310$ ), y el resto del Papworth Everard Hospital de Cambridge, Inglaterra. Todos los pacientes del estudio sufrieron una cirugía cardíaca de bajo riesgo con una función renal normal antes de la operación, incluyendo: injerto de baipás de arterias coronarias; injerto de baipás de arterias coronarias sin bomba; cirugía de válvulas cardíacas; injerto de baipás de



arterias coronarias y cirugía de válvulas cardíacas; coartación de la aorta; y pericardiectomía. Otros criterios de exclusión incluyen una insuficiencia renal dependiente de diálisis o una significativa enfermedad renal conocidas antes de la admisión en el estudio, y diabetes mellitus (no se excluyeron de este estudio los pacientes sometidos a terapia preoperatoria con inhibidores de la ACE). A lo largo de la estancia en el hospital, se registraron diariamente las medidas clínicas normales de la función de los órganos principales. Los datos se registraron en las notas del paciente y en la base de datos del Laboratorio de Bioquímica y se utilizaron posteriormente en el análisis. Además de las muestras rutinarias normales de sangre y orina, se obtuvieron muestras de orina adicionales como las siguientes:

– Muestra 1, obtenida después de que se hubiera desechado la orina residual en el cateterismo después de la inducción de la anestesia.

– Muestras 2-5, obtenidas 2, 24, 48 y 72 horas después de la cesación del baipás cardiopulmonar. Se examinaron el TNF-sr2 y el IL-1ra en todas las muestras de orina (en puntos temporales 1 y 3 como los anteriores; es decir, en la línea de base y 24 horas después de la operación).

#### Análisis de citocinas (ELISA)

Las citocinas se miden mediante la técnica de ELISA Quantikine en fase sólida, de R&D Systems. Este sistema consiste en un producto de conjugación, un patrón, un diluyente de ensayo, un diluyente de calibrador, un concentrado de tampón de lavado, un reactivo colorimétrico A, un reactivo colorimétrico B y una disolución de parada. Los reactivos deben estar a la temperatura ambiental antes de comenzar el ensayo. La microplaca consiste en 96 pocillos. Se reviste esta microplaca con un anticuerpo de captura. Se añade diluyente de ensayo a cada pocillo. Se añaden patrones por duplicado y las muestras a la placa y se incuba ésta durante 2 horas a temperatura ambiental. Todo analito presente en la muestra se une al anticuerpo de captura (anticuerpo inmovilizado). Después de la incubación, se aspira el contenido de la placa y se lava ésta cuatro veces con el tampón de lavado suministrado para separar los materiales no unidos. Después del lavado, se añade un anticuerpo de detección (producto de conjugación) marcado con proteasa de rábano picante (HRP; del inglés, *horseradish protease*) a la placa y se realiza otra incubación a temperatura ambiental. Una vez más, después de la incubación, se aspira el contenido de la placa y se lava ésta 4 veces. Todo anticuerpo de detección no unido es eliminado por el lavado. En la siguiente operación, se añade a los pocillos una disolución preparada del sustrato tetrametilbencidina (TMB), desarrollándose un color azul de intensidad proporcional a la cantidad de analito presente en la muestra. Después de 20 minutos de incubación, el color (azul) se ha desarrollado con una intensidad proporcional a la concentración de citocina. Para el análisis, se detiene el desarrollo de color, pasando el color de los pocillos a amarillo. Se mide la absorbancia del color a 450 nm, valor que se lee en el lector de microplacas.

#### Medición de la disfunción renal

En 1989, Kopple et al., como parte del grupo de estudio para Modificación de la Dieta en la Enfermedad Renal (MDRD; del inglés, *Modification of Diet in Renal Disease*), publicó sus hallazgos relativos a la investigación del impacto del estado nutricional sobre la insuficiencia renal crónica en 95 pacientes. Se compararon los efectos de una dieta testigo con restricción dietética solamente leve de proteínas sobre el progreso de la enfermedad renal, con los efectos de 3 dietas de estudio con grados variables de restricción proteica e ingestión reducida de fósforo. Los autores hallaron que una malnutrición y una menor ingestión de energía caracterizaban a los pacientes con los niveles de GFR menores. Hubo ciertas diferencias en cuanto al sexo, demostrándose en los hombres una correlación entre el GFR y el área muscular en los brazos y el porcentaje del peso corporal estándar, especialmente al inicio de las dietas experimentales. En las mujeres, el GFR se correlacionaba con la ingestión dietética de energía (Kopple et al., *Kidney Int.* 1989, Supl. 27). Un desarrollo lógico de este estudio a partir del grupo de MDRD fue la idea de que el análisis de la edad, el peso, el sexo y el grupo étnico de los pacientes, junto con el de la creatinina sérica, permitiría estimar el GFR. Este supuesto reconocía que la concentración sérica de creatinina sola no refleja adecuadamente la función renal pero que debería ser considerada en el estudio de Kopple junto con los factores identificados como influyentes en la función renal.

Para desarrollar la ecuación de predicción, se inscribieron 1628 pacientes en el periodo de línea de base, de los cuales 1070 fueron aleatoriamente seleccionados como muestra de aprendizaje mientras los 558 pacientes restantes constituyeron la muestra de validación. Los autores utilizaron luego una regresión gradual a la muestra de aprendizaje para desarrollar la ecuación, que fue luego probada y comparada con la fórmula de Cockcroft y Gault y con las mediciones de aclaramiento de creatinina en la muestra de validación.

Se halló que diversas variables medidas estaban asociadas con un menor GFR. Éstas incluían una mayor concentración de creatinina sérica, una mayor concentración de urea sérica y unos menores niveles de albúmina sérica. Las variables independientes asociadas con un menor GFR incluían el grupo de mayor edad, el sexo femenino y el grupo étnico no negro ( $P < 0,001$  para todos los factores).

En la muestra de validación, los modelos de regresión múltiple explicaban el 90,3% de la varianza del logaritmo de

GFR. El aclaramiento de creatinina medido sobreestimaba el GFR en un 19%, y el aclaramiento de creatinina pronosticado por la fórmula de Cockcroft-Gault sobreestimaba el GFR en un 16%. Después del ajuste para esta sobreestimación, los porcentajes de varianza del logaritmo de GFR pronosticados por el aclaramiento de creatinina medido y por la fórmula de Cockcroft-Gault eran 86,6% y 84,2%, respectivamente.

5 El GFR estimado por el grupo de estudio de MDRD se calcula a partir de la fórmula siguiente:

$$X = 32.788 \times \text{creatinina} - 1,154 \times \text{edad} - 0,203 \times \text{constante}$$

donde la constante es 1 para varones blancos, 0,724 para hembras y 1,21 para afroamericanos.

El GFR estimado por MDRD en el presente estudio se calculó a partir de la fórmula anterior.

10 De acuerdo con la fórmula anterior, se calculó el GFR de MDRD en el día 0 preoperativo y en los días 1, 2 y 5 posoperativos. Para cada día posoperativo separado así como para todos los días posoperativos a la vez, los pacientes se pueden dividir en los grupos de función renal normal y anormal, donde "normal" y "anormal" fueron definidos por aquellos que mantenían caídas en el GFR de MDRD inferiores o superiores, respectivamente, al 15% de la línea de base.

15 En resumen, para cada línea de base de citocina y cada citocina posquirúrgica, se compararon luego los valores entre los grupos normal y anormal, donde la normalidad y la anormalidad se definieron de acuerdo con las 4 definiciones mencionadas a continuación.

Definición 1: Se define "anormalidad" como el estado que tiene un valor de MDRD de día 1 > 15% de caída desde la línea de base (disfunción renal precoz).

20 Definición 2: Se define "anormalidad" como el estado que tiene un valor de MDRD de día 2 > 15% de caída desde la línea de base (disfunción renal precoz).

Definición 3: Se define "anormalidad" como el estado que tiene un valor de MDRD de día 5 > 15% de caída desde la línea de base (disfunción renal tardía).

Definición 4: Se define "anormalidad" como el estado que tiene al menos un valor de MDRD > 15% de caída desde la línea de base durante los días 1, 2 y 5 (disfunción renal general).

25 Resultados

Se registró un veinte por ciento de pacientes (79/397) en el grupo de disfunción renal precoz (días 1 y 2). En este subgrupo se encontró que, al quinto día posoperativo, 56 individuos (71%) habían mejorado y sólo 23 individuos (29%) aún presentaban disfunción renal. Esto muestra que más de dos terceras partes de los pacientes que tienen disfunción renal en las primeras 48 horas después de la operación están mejor a los 5 días después de la operación.

30 Se registró que el diez por ciento de todos los pacientes (40/397) presentaba disfunción renal tardía el quinto día posoperativo. De este subgrupo, 23 individuos (57,5%) desarrollaron problemas renales en el periodo posoperativo inmediato. Sin embargo, sólo 17 de estos 40 pacientes (42,5%) mostraron sus problemas renales varios días después de la operación a pesar de una función renal posoperativa normal. Esto muestra que más de la tercera parte de los pacientes con disfunción renal tardía desarrolla esta complicación sin signos posoperativos inmediatos de problemas renales.

35 Resultados de citocinas

Se comparan los cambios en las citocinas desde la línea de base entre los grupos de función renal normal y anormal. La función renal se define de acuerdo con los criterios anteriormente proporcionados.

(1) IL-1ra urinario y TNFsr-2 urinario 24 horas después de la operación:

40 Los pacientes que mostraban una función renal anormal el quinto día posoperativo (relación de MDRD del día 5 > 15%) (n = 32) presentaron tan pronto como sólo 24 horas después de la operación una respuesta antiinflamatoria urinaria muy significativamente menor (TNFsr-2 e IL-1ra urinarios a las 24 horas después de la operación) que los pacientes que mostraban una función renal normal más tarde, en el día 5 (n = 347) (relación de MDRD del día 5 < 15%).

45 (2) IL-1ra y TNF-sr2 urinarios:

Los pacientes que mostraban una función renal anormal los días posoperativos primero y segundo (relación de MDRD de los días 1-2 > 15%) (n = 32 el día 1; n = 68 el día 2) presentaron tan pronto como sólo 24 horas después

de la operación un nivel de TNF-sr2 antiinflamatorio urinario significativamente menor que los pacientes que mostraban una función renal normal los días 1 y 2 (relación de MDRD de los días 1-2 < 15%) (n = 360 el día 1; n = 323 el día 2).

5 Esto muestra que el nivel de TNF-sr2 urinario estaba reducido en la orina de los pacientes que tenían disfunción renal precoz (días 1 y 2) así como tardía (día 5).

No hubo diferencia significativa alguna en el IL-1ra antiinflamatorio urinario de 24 horas entre los pacientes que presentaban una función renal anormal en los días 1 y 2 y aquellos que presentaban una función renal normal en el mismo periodo.

10 A las 24 horas, el nivel de TNF-sr2 urinario era significativamente menor en el grupo de disfunción renal de los días 1 y 2 mientras que, en el mismo periodo de tiempo, el nivel de IL-1ra urinario no era significativamente menor en el grupo de disfunción renal.

(3) El perfil de citocinas que caracteriza la disfunción renal precoz:

15 Nuestros resultados muestran que, en los días 1 y 2, la disfunción renal posoperativa precoz tiene un perfil citocínico posoperativo de 24 horas caracterizado por disminuciones en la respuesta de TNF-sr2 urinario posoperativo de 24 horas pero no en la de IL-1ra.

(4) El perfil de citocinas que caracteriza la disfunción renal tardía:

La disfunción renal que se desarrolla mucho más tarde, aproximadamente el día 5 después de la operación, tiene un diferente perfil de citocinas que se caracteriza por reducciones muy significativas en las respuestas de IL-1ra y TNF-sr2 urinarios posoperativos de 24 horas.

20

**REIVINDICACIONES**

1. Un método para el pronóstico de una disfunción renal inducida por un trauma físico, hipotensión, sepsis y/o síndrome de choque séptico, en donde el método comprende las operaciones de:
- 5 a) determinar el nivel de una citocina antiinflamatoria presente en una muestra de orina de un sujeto antes de un trauma físico, antes de un proceso hipotensivo, antes de una sepsis y/o antes de un síndrome de choque séptico;
- b) determinar el nivel de la citocina antiinflamatoria presente en una muestra de orina del sujeto después de un trauma físico, después o durante un proceso hipotensivo, después o durante una sepsis y/o después o durante un síndrome de choque séptico;
- 10 c) calcular la diferencia entre el nivel de la citocina antiinflamatoria determinado en la operación a) y el nivel de la citocina antiinflamatoria determinado en la operación b); y
- d) proporcionar un diagnóstico y/o pronóstico basándose en una comparación entre la diferencia calculada en la operación c) y la diferencia calculada en la operación c) cuando las operaciones a) y b) se llevan a la práctica sobre un grupo testigo, en donde los sujetos que muestran una diferencia calculada en la operación c) que es más pequeña que la diferencia calculada en la operación c) cuando las operaciones a) y b) se llevan a la práctica sobre un grupo testigo presentan un riesgo de desarrollar disfunción renal mayor que el normal, consistiendo el grupo testigo en individuos que no presentan disfunción renal el quinto día después de un trauma físico; después o durante un proceso hipotensivo; después o durante una sepsis; y/o después o durante un síndrome de choque séptico.
- 15
2. Un método según la Reivindicación 1, en donde la disfunción renal es disfunción renal aguda.
3. Un método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la muestra de orina analizada en la operación b) se obtiene del sujeto después de un trauma físico, un proceso hipotensivo, una sepsis y/o un síndrome de choque séptico en menos de 48 horas.
- 20
4. Un método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende además las operaciones de:
- a") determinar el nivel de una o más citocinas antiinflamatorias adicionales presentes en una muestra de orina de un sujeto antes de un trauma físico, antes de un proceso hipotensivo, antes de una sepsis y/o antes de un síndrome de choque séptico;
- 25 b") determinar el nivel de una o más citocinas antiinflamatorias adicionales presentes en una muestra de orina del sujeto después de un trauma físico, después o durante un proceso hipotensivo, después o durante una sepsis y/o después o durante un síndrome de choque séptico;
- c") calcular la diferencia entre el nivel de la una o más citocinas antiinflamatorias adicionales determinado en la operación a") y el nivel de la una o más citocinas antiinflamatorias adicionales determinado en la operación b"); y
- 30 d") proporcionar un diagnóstico y/o pronóstico basándose en una comparación entre la diferencia calculada en la operación c") y la diferencia calculada en la operación c") cuando se llevan las operaciones a") y b") a la práctica sobre un grupo testigo.
5. Un método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende además las operaciones de:
- 35 a") determinar el nivel de NGAL y/o IL-18 presentes en una muestra de orina de un sujeto antes de un trauma físico, antes de un proceso hipotensivo, antes de una sepsis y/o antes de un síndrome de choque séptico;
- b") determinar el nivel de NGAL y/o IL-18 presentes en una muestra de orina del sujeto después de un trauma físico, después o durante un proceso hipotensivo, después o durante una sepsis y/o después o durante un síndrome de choque séptico;
- 40 c") calcular la diferencia entre el nivel de NGAL y/o IL-18 determinado en la operación a") y el nivel de NGAL y/o IL-18 determinado en la operación b"); y
- d") proporcionar un diagnóstico y/o pronóstico basándose en una comparación entre la diferencia calculada en la operación c") y la diferencia calculada en la operación c") cuando se llevan las operaciones a") y b") a la práctica sobre un grupo testigo.
- 45
6. Un método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la citocina antiinflamatoria, o la una o más citocinas adicionales, se seleccionan del grupo que consiste en TNFsr1, TNFsr2, IL-1ra y cualquier combinación de los mismos.

7. Un método según la Reivindicación 6, en donde, cuando la citocina es TNFsr2 y la diferencia calculada en la operación c) cuando se llevan las operaciones a) y b) a la práctica sobre un grupo testigo es 7500 o más pg de TNFsr2 en un ml de orina mayor que la diferencia calculada en c), el sujeto presenta un riesgo de desarrollar disfunción renal mayor que el normal.
- 5 8. Un método según la Reivindicación 6, en donde, cuando la citocina es IL-1ra y la diferencia calculada en la operación c) cuando se llevan las operaciones a) y b) a la práctica sobre un grupo testigo es 35.000 o más pg de IL-1ra en un ml de orina mayor que la diferencia calculada en c), el sujeto presenta un riesgo de desarrollar disfunción renal mayor que el normal.

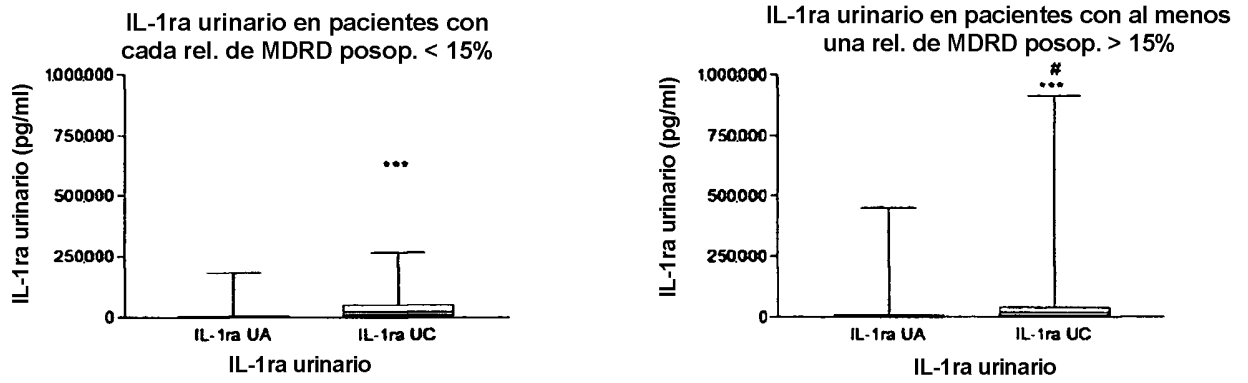


Figura 1

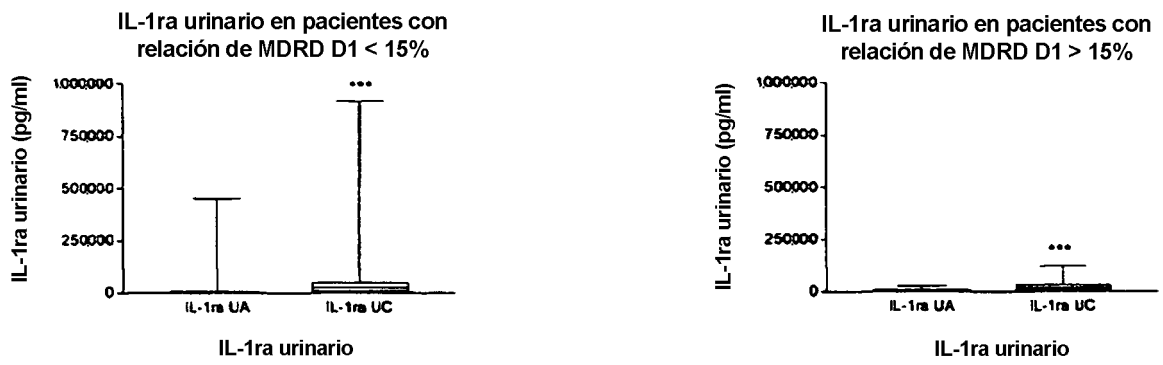


Figura 2

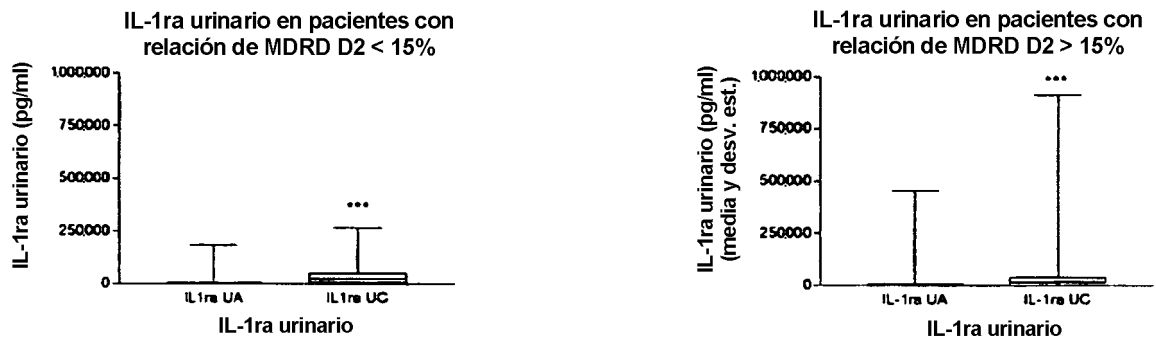


Figura 3



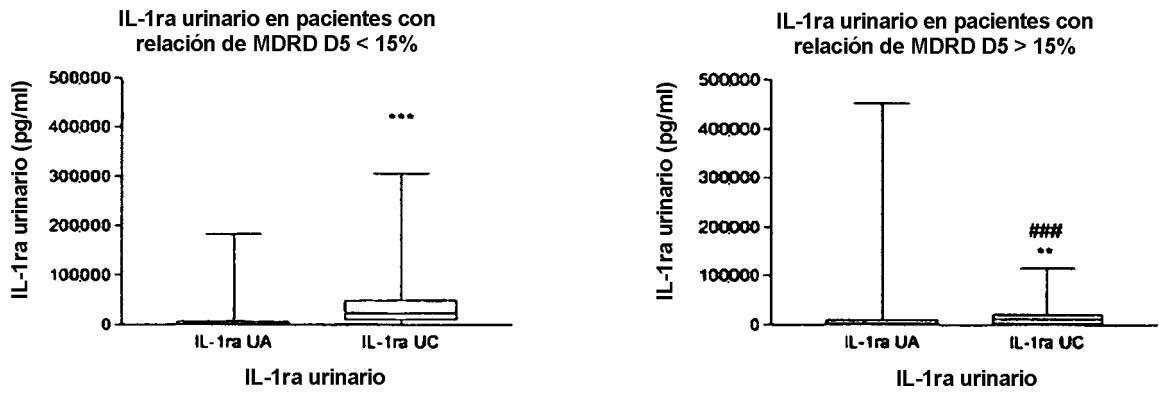


Figura 4

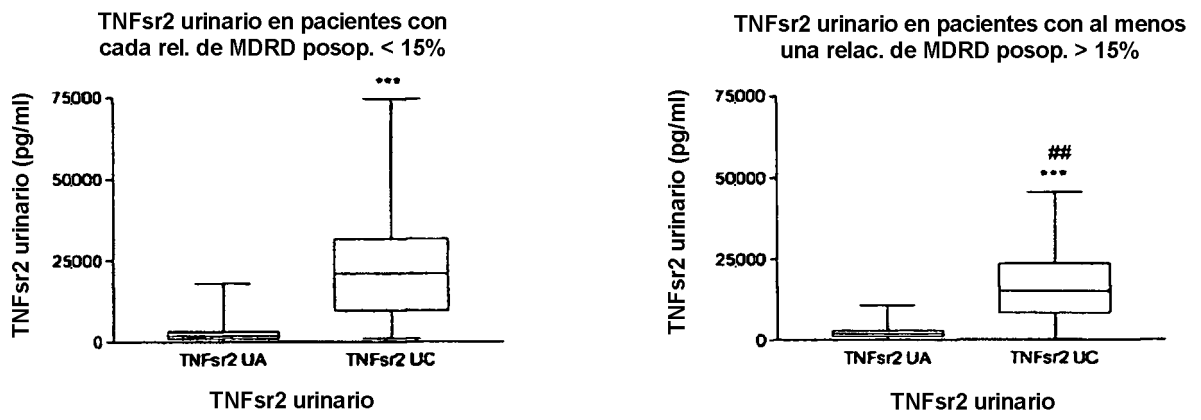


Figura 5

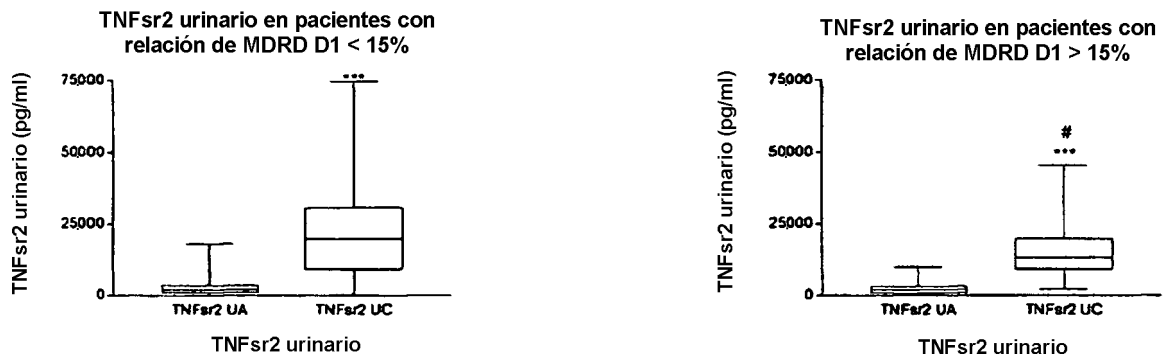


Figura 6

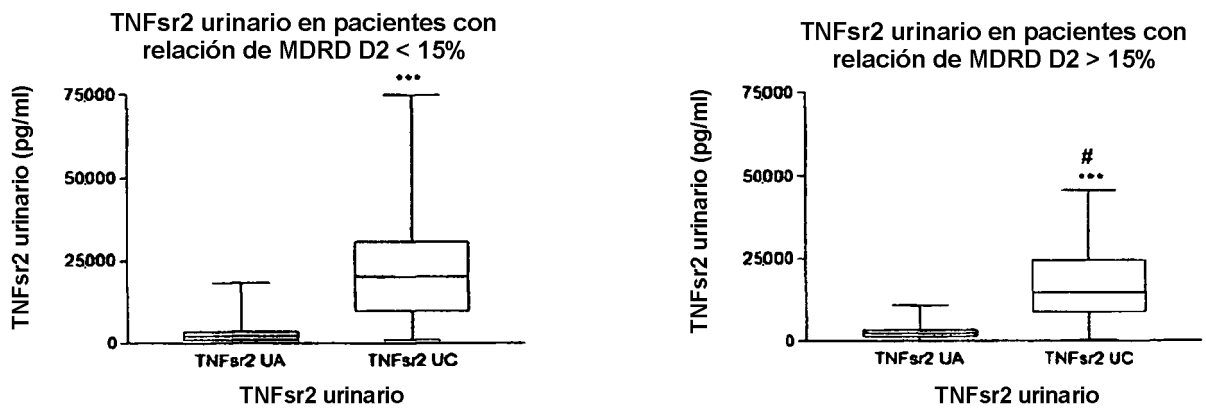


Figura 7

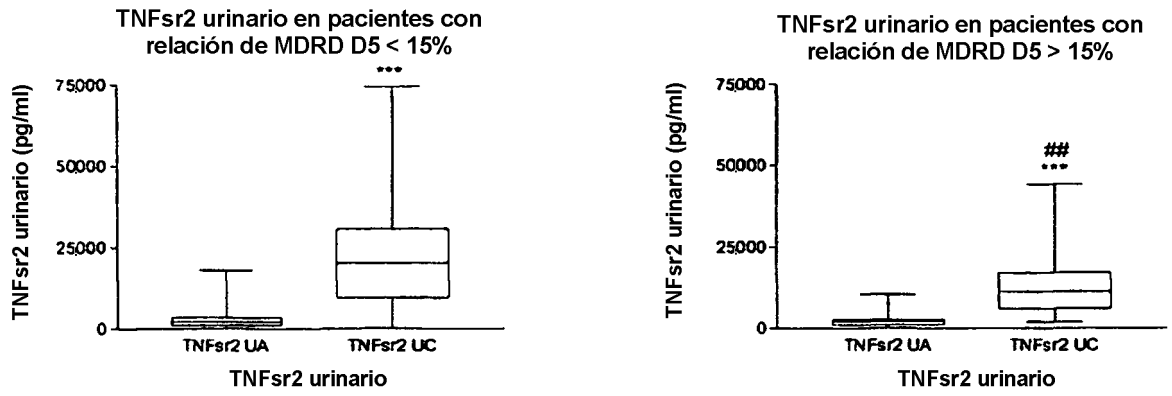


Figura 8